



TITLE:

カルシウム含有結石の成因に関する実験的ならびに臨床的研究 (1)エチレングリコール,1 α (OH)D3投与によるラット腎結石発生実験モデル

AUTHOR(S):

岡田, 裕作; 川村, 寿一; 野々村, 光生; 郭, 俊逸; 吉田, 修

CITATION:

岡田, 裕作 ...[et al]. カルシウム含有結石の成因に関する実験的ならびに臨床的研究 (1)エチレングリコール,1 α (OH)D3投与によるラット腎結石発生実験モデル. 泌尿器科紀要 1985, 31(4): 565-577

ISSUE DATE:

1985-04

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/118471>

RIGHT:

カルシウム含有結石の成因に関する実験的 ならびに臨床的研究

(I) エチレングリコール, 1α (OH) D_3 投与による
ラット腎結石発生実験モデル

京都大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 吉田 修教授)

岡 田 裕 作
川 村 寿 一
野々村 光 生
郭 俊 逸
吉 田 修

EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON CALCIUM UROLITHIASIS:

(I) ANIMAL MODEL FOR CALCIUM OXALATE UROLITHIASIS
USING ETHYLENE GLYCOL AND 1-ALPHA (OH) D_3

Yusaku OKADA, Juichi KAWAMURA, Mitsuo NONOMURA,
Yih Junne KUO and Osamu YOSHIDA

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. O. Yoshida)*

As calcium oxalate stones are the most important component in urolithiasis, an experimental model has to be designed to clarify the pathogenesis and aid in their prevention. Hyperoxaluria as well as hypercalciuria were produced in rats by administering ethylene glycol (0.5%, in drinking water administered ad libitum) and 1-alpha (OH) D_3 (0.5 μ g/rat given every other day), respectively, for three to four weeks.

Neither drug alone produced stones efficiently as did the combination regimen of these two compounds. The occurrence of stones was 77.3%, and with only a moderate degree of renal functional impairment. Biochemical and histological data were obtained using this model.

Key words: Urolithiasis, Calcium oxalate, Animal model, Ethylene-glycol, 1α (OH) D_3

結 言

本邦における尿路結石症の全国疫学調査 (1979年¹⁾) によると, カルシウム含有結石は, 混合結石を含めると実に85.4%にもおよび, うち蓚酸カルシウムを含むものは74.2%を占め, 単一成分結石としても, 蓚酸カルシウムが27.5%と他の結石成分に比して圧倒的に多い。また部位別頻度では, 上部尿路結石が占める割合

は95%であり, 欧米諸国の尿路結石症と較べても大差がなくなっている。しかし, 同調査によると, 尿路結石症の82.2%までもが原因不明という結果が出ている¹⁾。したがって, いわゆる“原因不明”の上部尿路カルシウム含有結石, ことにもっとも頻度の高い蓚酸カルシウム結石の成因をあきらかにすることはきわめて重要である。

カルシウム含有結石の基礎的研究には, 簡便で確実

な、動物実験モデルの作成が必要であり、現在までに、さまざまな結石発生実験モデルが報告されている²⁻¹⁸⁾ エチレングリコール投与²⁻⁴⁾、エチレングリコールとマグネシウム欠乏食との併用^{5,6)}、エチレングリコールとビタミン B₆ 欠乏食との併用⁷⁾、ビタミン B₆ およびマグネシウム欠乏食⁸⁾、蔞酸ナトリウム腹腔内投与⁹⁻¹²⁾あるいは蔞酸の経口投与¹²⁾、グリコール酸投与¹⁴⁾などの動物実験があり、これらはいずれもさまざまな方法で蔞酸負荷を試みたものである。いっぽう、さまざまなビタミン D 投与^{15,16)}、低リン食投与¹⁷⁾などはカルシウム負荷で尿路結石作成を試みたものである。また、特殊なものでは、ウサギを用い一過性に水腎症を起こすことにより、カルシウム含有結石を発症させる実験モデルも報告¹⁸⁾されている。しかし、これらの動物実験において、あるもの^{8,17)}は3~10カ月間といった長期投与が必要で、またあるもの⁹⁻¹²⁾は余りにも急性大量投与をし、腎尿細管内の結晶沈着だけが起こるといった難点があり、ヒトの尿路結石症とかけ離れたものとなっていると思われ、新しく、より簡便に作成でき、ヒトの尿路結石に病態的に近いモデルの工夫が必要と考えられる。

今回、われわれはラットを用いてエチレングリコールにより過蔞酸尿症を、また合成活性型ビタミン D である $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ により過カルシウム尿症を惹

起し、これらを同時に併用投与することにより、各単剤では結石形成が起らない投与量で、高率に、しかもヒトの尿路結石に近い状態で蔞酸カルシウム結石形成を起こすことができた。

本論文では、このラット蔞酸カルシウム上部尿路結石モデルの作成方法、およびその血液および尿中の生化学的变化、ならびに腎実質内のカルシウム、マグネシウム含有量、腎機能および形態学的変化を中心に報告する。

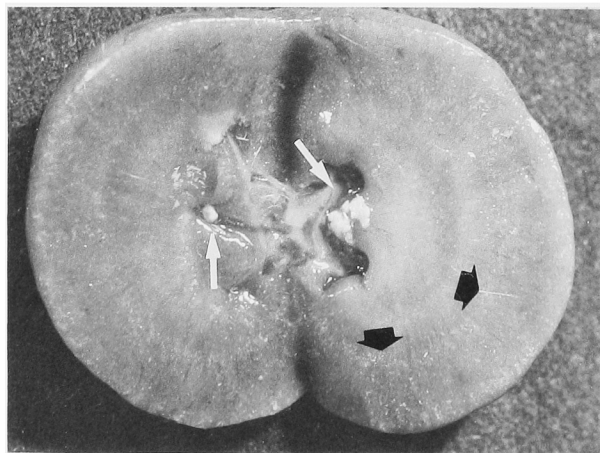
方 法

実験動物には体重約 200 g のウイスター系雄ラットを使用した。エチレングリコール (以下 EG) は飲水中に溶解し、 $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ (以下 D_3 , アルファロール (中外製薬)) は胃ゾンデにより強制投与した。 D_3 を投与しない群には、コントロールとしてサラダ油を胃ゾンデにより強制投与した。

実験群は以下の4群に分け、一匹ずつ代謝ケージにて飼育し、投与後3~4週目に屠殺した。

第1群 (n=7) : 飼料には日本クレア製 CE-2 使用、飲水は水道水を自由摂取させ、 D_3 のかわりにサラダ油 1 ml を強制経口投与した (対照群)。

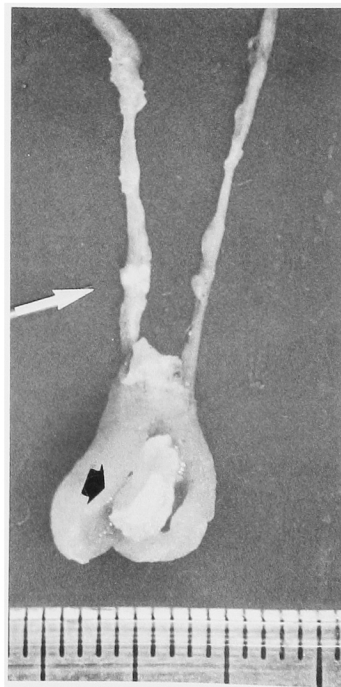
第2群 (n=17) : EG 0.5%濃度を飲水中に加え、自由摂取させ、サラダ油 1 ml を胃ゾンデにて強制経



A

Fig. 1. A and B. Macroscopic view at time of sacrifice of Group 4 rat. Stones in the renal pelvis and in the papilla (white arrow) and marked calcium deposition in the renal parenchyma, especially at the corticomedullary junction (black arrow) are shown (A).

The ureteral stone (white arrow) and bladder stone (black arrow) are also evident with right ureteral dilatation (B)



B

口投与した (EG 群)。

第3群 (n=15): D_3 0.5 μ g (アルファロール 1ml) を隔日に胃ゾンデを用い強制投与し、飲水は水道水を自由摂取させた (D_3 群)。

第4群 (n=22): EG 0.5%濃度を飲水中に加え、自由摂取させ、同時に D_3 0.5 μ g を隔日に強制経口投与した (EG+ D_3 群)。

各群の体重、飲水量、飼料摂取量、および尿量の測定と、採血、採尿を毎週1回おこなった。採血は尾静脈よりヘマトクリット管にておこなった。採尿には代謝ケージを使用した。測定項目は、Ht 値、BUN、血中カルシウム (Ca)、リン (P)、尿中は Ca、P、マグネシウム (Mg)、蓚酸を測定した。Ht 値は毛細管法にて、BUN はジアセチルモノオキシム法¹⁹⁾、Ca はオルトクレゾールフタレインコンプレキソン

(OCPC)法²⁰⁾、P はモリブデンブルー法²¹⁾、Mg はキシリジンブルー法²²⁾。尿中蓚酸は八竹法の変法²³⁾ (比色定量法)を用いた。

投与後3~4週目で、イヌリンクリアランス (Cin) を施行した。クリアランスは軽いエーテル麻醉下で前処置した後、覚醒下に川村らの方法²⁴⁾にて施行した。イヌリンはアントロン法²⁵⁾によって測定した。クリアランス測定後、屠殺し、腎、尿管、膀胱を摘出し、結石形成の有無を観察した。両腎の重量を測定後、右腎はホルマリン固定し、ヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色に供し、左腎は-20°C に凍結保存し腎組織内の Ca、Mg 含有量を原子吸光分光光度計 (島津 AA-646 型) にて測定した。また HE 染色した標本は偏光顕微鏡下に蓚酸カルシウム結晶沈着の有無をみた。

また一部ではあるが、摘出腎の軟線によるレントゲン撮影をおこない結石の発生、沈着の有無を観察した。走査型電子顕微鏡 (日立 S-430) による超微細構造の観察をおこなうために、Karnovsky の固定液による灌流固定と1%4酸化オスミウムによる固定、アルコール、アセトン系列による脱水の後、酢酸イソアミルに置換、臨界点乾燥し、金イオン蒸着をおこなった。得られた結石は赤外線分光分析をおこなった。

結 果

各群の体重の変化をみると、第4群で投与3週目より増加率が抑えられ、4週目では対照群に比べ有意に

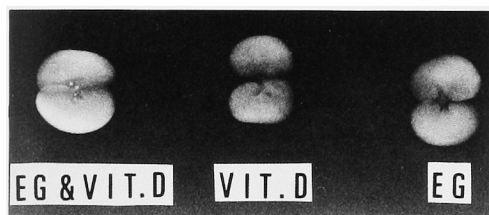


Fig. 2. Soft X-ray film of the whole kidneys shows no calcium deposition in Group 2 (EG) and 3 (Vit D), but many stones in the renal pelvis as well as the parenchyma, chiefly in the medulla in Group 4 (EG+Vit D).

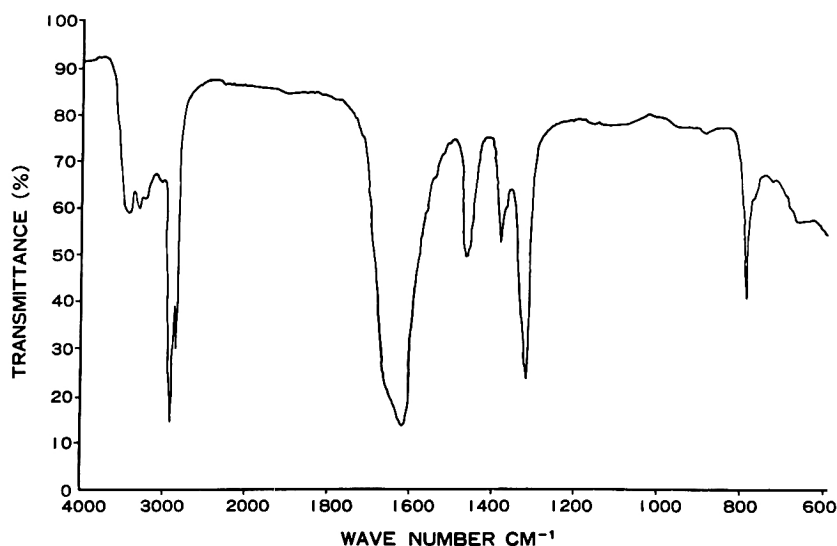
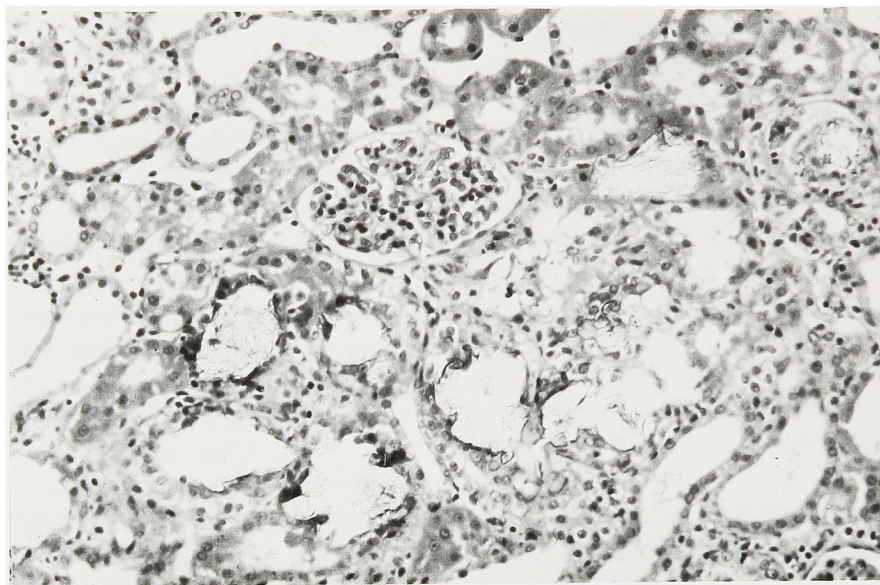
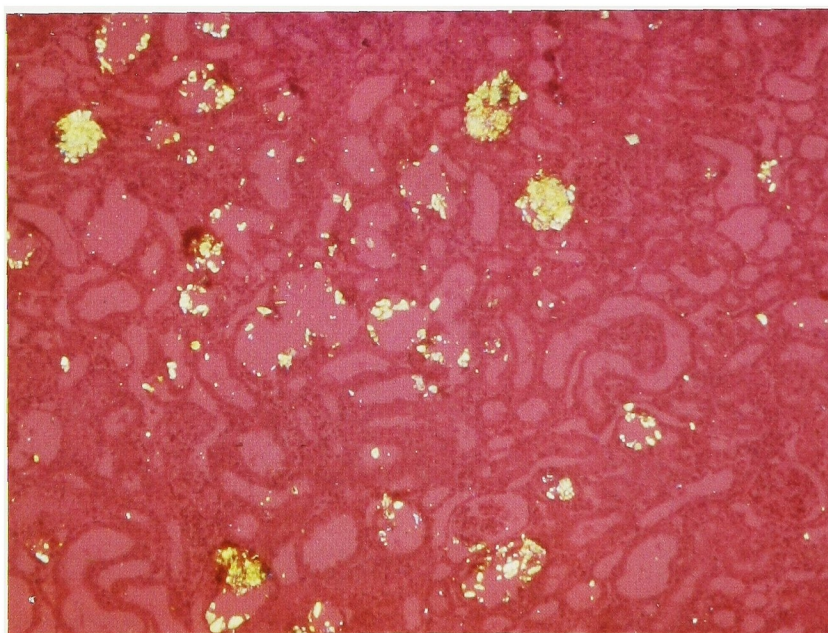


Fig. 3. Infrared spectroscopy of the stone obtained from Group 4 rat indicates a pure calcium oxalate stone.



A



B

Fig. 4, A and B. Photomicrographs of H.E. stain (mag. $\times 200$) (A), and through cross-polarizing light (mag. $\times 50$) (B) sectioned from the kidney of Group 4 rat. Note many crystals, assumedly calcium oxalate, in the dilated and partially destroyed renal distal tubules.

低くなった (Fig. 6). 尿量は第4群で1~2週目頃より著明な増加を示した. 第3群の尿量も投与2~3週目より対照群に比して有意に増加する (Fig. 7). 1日飲水量は, 尿量の推移とほぼ同様の変動を示した.

第1, 2, 3群では結石形成, あるいは腎内結晶沈着はまったく認めなかったが, 第4群の22匹中17匹 (77.3%) に結石形成を認めた. 各群の形態学および生化学的变化はつぎのとおりである.

1. 形態学的変化.

Fig. 1 は第4群での代表的な例の肉眼所見である. Fig. 1, A に腎盂内, Fig. 1, Bにて右下部尿管, 膀胱内に結石を認め, 軽度の右水腎, 水尿管症をみる.

腎実質内にも皮髄境界部より髄質, 乳頭部にかけて放射状の結晶沈着を認める. Fig. 2 は各群の摘出腎を軟線にてレントゲン撮影したものであるが, 第4群の腎において腎盂内および腎実質内に結石形成が起こっており, また腎は著明に腫大しているのがわかる. Fig. 3 は第4群で得られた結石の赤外線分光分析であるが純粋な蓚酸カルシウム結石であることが確認された. Fig. 4, A は HE 染色標本を顕微鏡下に観察したもので, 拡張した尿管管内に無色透明の多数の結晶を認め, 尿管上皮の破壊像も一部にみる. Fig. 4, B は同一標本を偏光顕微鏡下にみたもので, 多数の結晶をみる. 他の群ではこのような結晶はまったく観察されなかった. Fig. 5 は第4群の走査電顕像であ

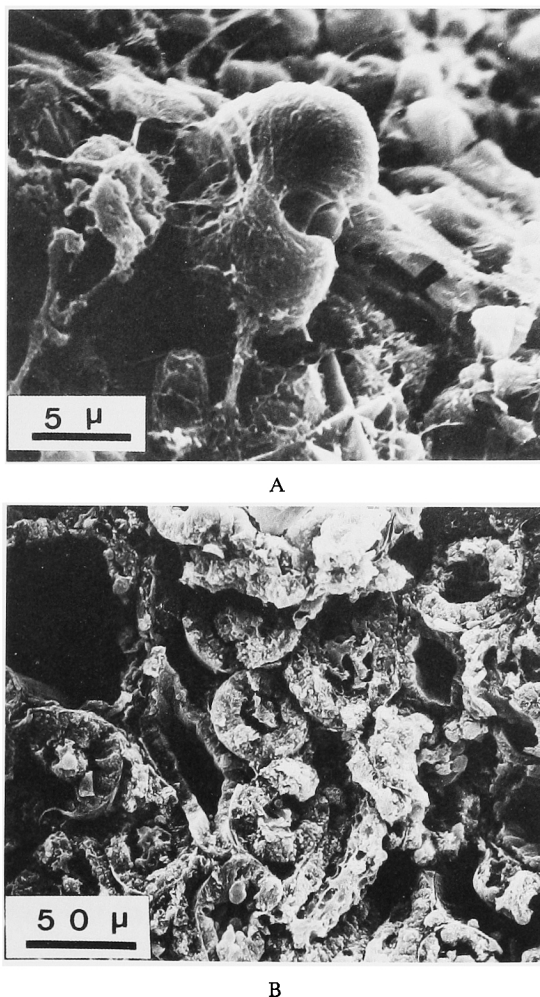


Fig. 5, A and B. Scanning electron micrographs show typical calcium oxalate monohydrate crystals surrounded by microfilaments on the surface of the renal papilla (A), and in the renal tubules (B) in Group 4 rat.

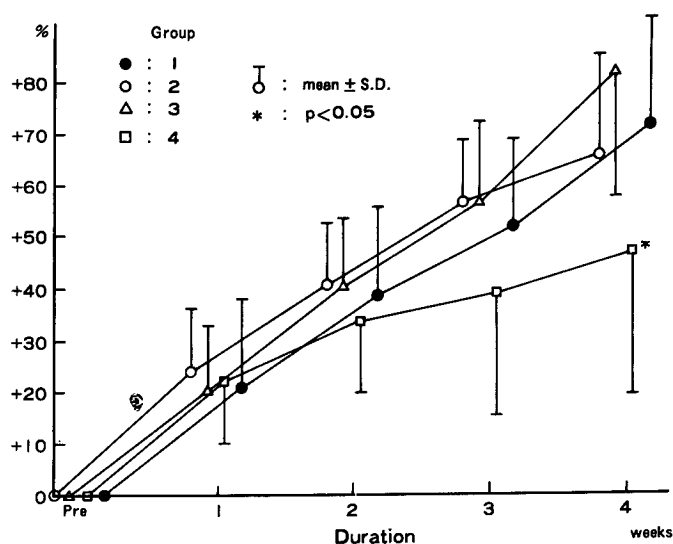


Fig. 6. Change in body weight.

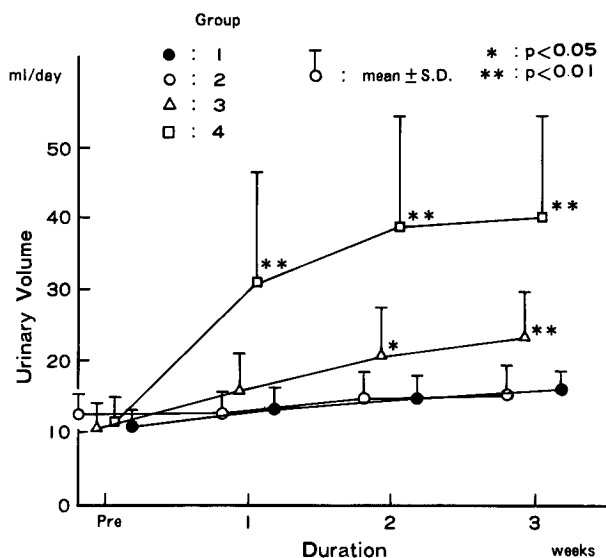


Fig. 7. Change in urinary volume.

る。Fig. 5, A では腎盂表面に付着した多数の結晶がみられ、中央部に典型的な尿酸カルシウム一水化物の結晶があり、結晶周囲にフィラメント様の線維の付着がみられる。Fig. 5, B は腎実質部をみたもので尿細管内腔の拡張および上皮に固着した結晶を多数認める。

Ⅱ. 生化学的变化：

各群の投与後3週目の生化学的検査結果を Table 1 に示す。

血中 Ca は D_3 投与した第3, 4群で有意な上昇

をみ、尿中 Ca 排泄量も対照群の10~20倍といちじるしく増加している。

血中 P は各群間で有意な差は認めない。尿中 P 排泄量は対照群に比べ第2群 ($p < 0.05$) と第4群 ($p < 0.01$) で有意に低下している。

尿中 Mg 排泄量は第3, 4群で有意に増加している。

尿中尿酸排泄量は対照群に比し第2群 ($p < 0.01$)、第4群 ($p < 0.05$) で増加し、第3群 ($p < 0.01$) で減少している。

Table 1. Serum calcium, phosphate and urinary excretions of calcium, phosphate, magnesium, and oxalate after three weeks of administration (Mean \pm SD). Figures in parentheses indicate numbers of rats. Significantly different from control group (Group 1); * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Serum calcium (mg/100ml)	7.71 \pm 0.75 (5)	8.50 \pm 1.01 (11)	10.51 \pm 1.58** (11)	10.80 \pm 1.93** (19)
Serum phosphate (mg/100ml)	6.13 \pm 0.42 (3)	5.18 \pm 1.77 (9)	6.19 \pm 1.16 (8)	7.30 \pm 1.68 (17)
Urine calcium (mg/day)	0.76 \pm 0.34 (8)	1.11 \pm 0.90 (17)	17.49 \pm 6.76** (15)	8.00 \pm 6.57** (13)
Urine phosphate (mg/day)	41.20 \pm 9.48 (7)	34.27 \pm 7.44* (17)	49.47 \pm 16.93 (15)	28.89 \pm 9.86** (22)
Urine magnesium (mg/day)	1.90 \pm 0.36 (7)	1.99 \pm 0.67 (17)	2.82 \pm 0.64** (15)	4.54 \pm 1.57** (22)
Urine oxalate (mg/day)	2.08 \pm 0.51 (3)	5.10 \pm 1.54** (8)	1.23 \pm 0.31* (4)	4.86 \pm 1.81* (9)

Table 2. Ratios of urinary excretion of magnesium to that of calcium, phosphate, oxalate, and (calcium \times oxalate) after three weeks of administration.

Ratio	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Mg/Ca	2.50	1.79	0.16	0.57
Mg/P	0.05	0.06	0.06	0.16
Mg/Ox	0.91	0.39	2.29	0.93
Mg/(Ca \times Ox)	1.20	0.35	0.13	0.12

Table 2 に、Table 1 の Ca, P, 蓚酸の尿中排泄量の平均値の Mg に対する比、および Mg と、Ca と蓚酸の積との比を示した。Mg/Ca は対照群の2.50に比べ、第3群で0.16ととっても低く、ついで第4群で0.57であった。Mg/P は第4群で0.16と他群と比べ高かった。Mg/蓚酸は第2群で0.39と低く、第3群で2.29と対照群の0.91に比べ高値を示した。Mg/(Ca \times 蓚酸)は第3、4群でそれぞれ0.13、0.12と対照群の1.20に比べ著明に低く、ついで第2群で0.35であった。

次に、各項目について経時的变化をみる。血中 Ca は第3群で投与1週目に、第4群で2週目より対照群に比して増加する (Fig. 8, A)。尿中 Ca 排泄量は第3、4群ともに投与1週目より著増するが、両群を比較すると第3群の方がより増加し、第4群では投与2～3週目には、わずかながら下降傾向を示す (Fig. 8, B)。

尿中 Mg 排泄量も第3、4群で有意な増加を示すが、第4群の方がより増加する (Fig. 9)。

血中 P は大きな変動はないが、尿中 P 排泄量は第3群で投与1週目より他の群に比して有意に増加する。しかし、第4群では尿中 P 排泄量は増加はみず、むしろ3週目では対照群より有意に低下する (Fig. 10, A, B)。

摘出腎の重量および組織内の Ca, Mg 含有量を Table 3 に示す。第4群において腎重量の増加を認め、Ca 含有量も 9077 \pm 5401 (Mean \pm S. D.) μ g/gm tissue と他の群に比して300倍以上の高濃度となっている。Mg 含有量は各群間で有意な差はみられなかった。

腎機能検査結果を Table 4 に示す。投与開始後3週目で、第4群の BUN は 47.3 \pm 19.3 mg/dl と他群に比し有意に上昇し、中等度以上の腎機能障害をみた。イスリンクリアランス (Cin) でみると、第2、3群でも対照群と比較すると有意な低下を示すが、第4群では対照群の約4分の1まで低下する。

BUN は第4群で、投与2週目より有意な上昇をみ、以後もほぼ直線的に上昇するが、個々のラットに

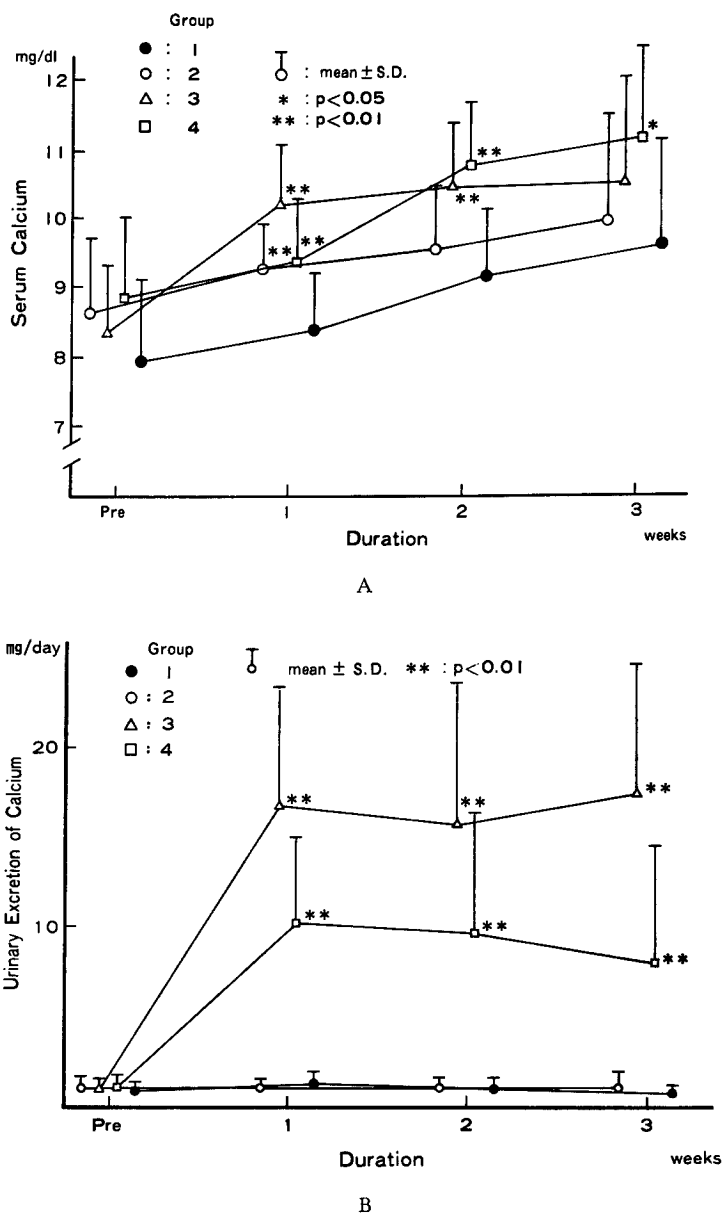


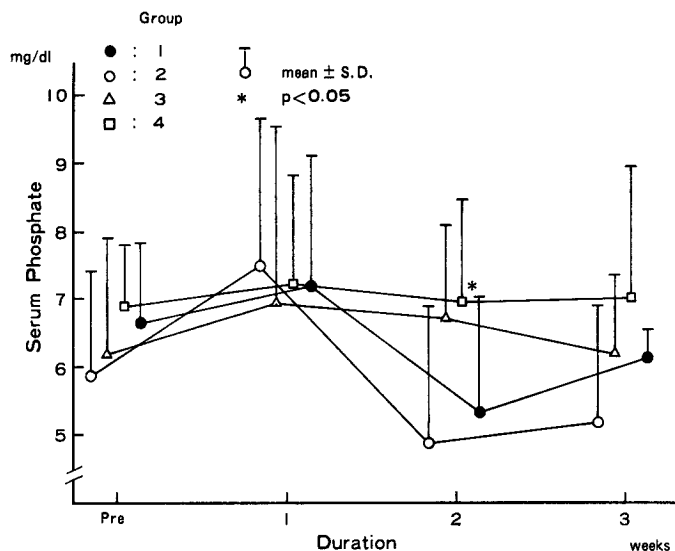
Fig. 8. A, and B. Change in serum calcium level (A), and urinary excretion of calcium per day (B).

よる個体差も大きい (Fig. 11).

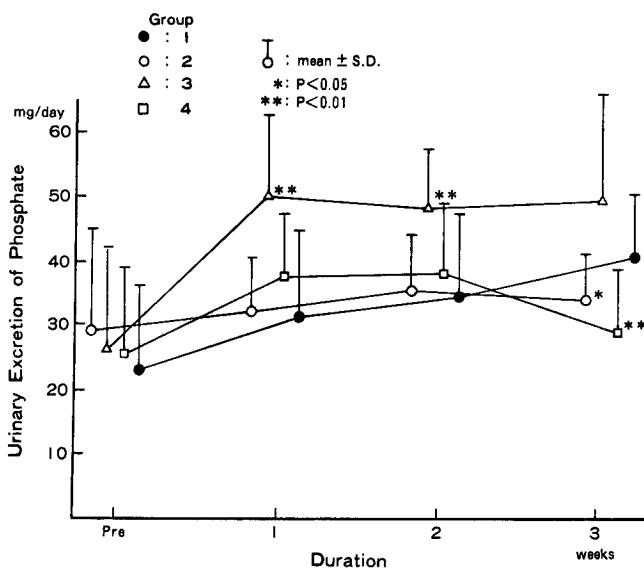
考 察

カルシウム含有結石は、尿路結石症の3/4以上を占め¹⁾、発症原因をあきらかにすることが困難なことが多く、したがってその特異的な再発予防治療法に苦慮することが多い。これはカルシウム含有結石、ことに蔞酸カルシウム結石の形成には、多くの発生要因が関

与しているためである。今までに、あきらかにされてきている要因は大別して、1) 結石構成成分であるカルシウム、リン、蔞酸自身の尿中排泄増加 (Solute load), 2) 尿酸に代表される結晶化促進物質の増加 (Epitaxy), 3) マグネシウム、クエン酸、ピロリン酸、ある種の酸性ムコ多糖類などの結晶化阻止物質 (Crystal poison) の低下, 4) 尿 pH の変化などがあげられる。



A



B

Fig. 9, A and B. Change in serum phosphate level (A), and urinary excretion of phosphate per day (B).

Solute load からカルシウム含有結石の成因をみた場合でも、カルシウム、尿酸のいずれが、より重要な役割りを果しているのか、いまだに解明されているとはいえない。

Robertson ら²⁶⁾ (1980) は、*in vitro* の系で尿酸がカルシウムより、結石形成において、より重要な役割りを果たしていると報告している。しかし、カルシウム含有結石患者のうちで過カルシウム尿がよくみられ

ることは、以前より良く知られている事実であり、カルシウム、尿酸それぞれ、あるいは両者がお互いに関係しあっている、危険因子としての働きが究明されなければ、結論的なことはいえないと思われる。最近では、尿酸とカルシウムの腸管からの吸収に関し、相互の関連性をより重要視する傾向も出ている。

いっぽう、カルシウム含有結石症において、活性型ビタミン D である 1, 25-Dihydroxy-vitamin D の

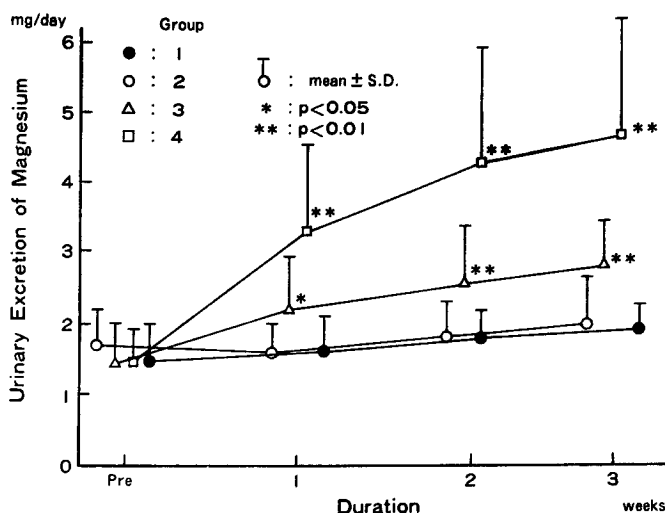


Fig. 10. Change in urinary excretion of magnesium per day.

Table 3. Weight, and calcium and magnesium contents of the kidney (Mean \pm SD). Figures in parentheses indicate numbers of rats. Significantly different from control group (Group 1); **p < 0.01.

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Weight of kidney (g)	1.39 \pm 0.25 (9)	1.43 \pm 0.22 (17)	1.34 \pm 0.22 (12)	1.89 \pm 0.42 ^{**} (19)
Calcium content of kidney (μ g/g tissue)	24.3 \pm 10.3 (9)	24.5 \pm 8.9 (15)	29.6 \pm 12.6 (14)	9077 \pm 5401 ^{**} (18)
Magnesium content of kidney (μ g/g tissue)	159.5 \pm 67.2 (6)	149.6 \pm 47.8 (8)	167.2 \pm 38.8 (6)	164.9 \pm 42.5 (7)

Table 4. Serum BUN and inulin clearance at the time of sacrifice of rats. Figures in parentheses indicate numbers of rats. Significantly different from control group (Group 1); *p < 0.05, **p < 0.01.

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
BUN (mg/100ml)	25.1 \pm 7.5 (6)	27.5 \pm 10.9 (13)	25.2 \pm 13.6 (10)	47.3 \pm 19.3 ^{**} (20)
Cin (ml/min/rat)	2.24 \pm 0.24 (5)	1.99 \pm 0.25 [*] (9)	1.97 \pm 0.23 [*] (7)	0.60 \pm 0.44 ^{**} (7)

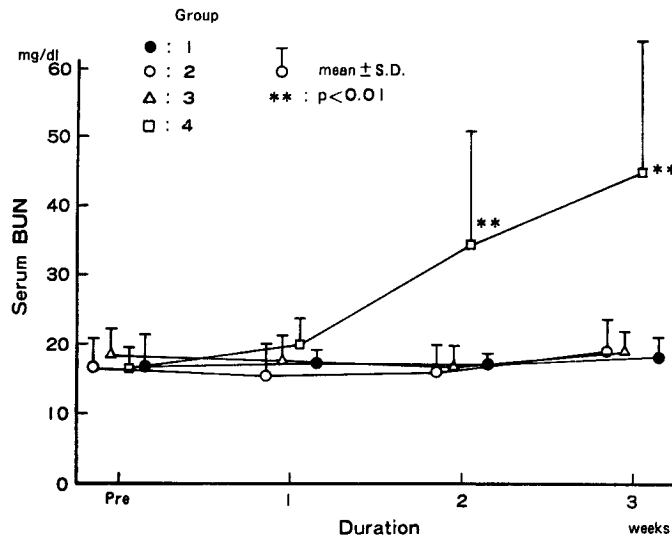


Fig. 11. Change in BUN level

関与も注目されてきている^{27,28)}。今回 $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ を使用することにより、対照群の10~20倍の過カルシウム尿を引き起こしたにもかかわらず、結石形成をみなかったのは興味深い。

エチレングリコール投与により内因性の尿酸負荷がかかることは、古くから良く知られている。しかし、今回のわれわれの実験では、0.5%濃度で尿中尿酸排泄量は対照群の2~3倍に増加したにもかかわらず、結石形成はまったくみられなかった。予備実験でエチレングリコール1%濃度で3カ月間投与したが、この濃度にも結石形成はまったくみず、他の報告^{2,3)}とは若干異なった結果となった。これは、使用する実験動物の種類、あるいは系の違いにより、尿酸の代謝が異なることによるものかも知れない。また、エチレングリコールの結石形成を起こすことの可能な濃度(0.25~1%)と中毒死する濃度(2~5%)の範囲が比較的狭いことも関与しているかも知れない。

いずれにしても、エチレングリコール単独投与では、結石形成は低く^{2,3,5,6)}、尿酸ナトリウムの併用投与²⁾、ビタミンB₆^{7,8)}やマグネシウムの欠乏食^{5,6,14)}、膀胱内異物(亜鉛片)の挿入や塩化アンモニウムにより尿酸性化³⁾など他の因子を絡ませている報告が多い。

今回のわれわれのおこなった方法は、投与期間も3~4週間で結石形成も77.3%と高率に起こることから、尿酸カルシウム結石の良い実験モデルになるものと考ええる。また、尿酸カルシウム結石形成において、カルシウム、尿酸のいずれがより重要な役割りを演じて

いるのか *in vivo* での基礎的検討されたものはない。本モデルではエチレングリコールと活性型ビタミンDを併用投与することにより、前者で内因性の尿酸排泄増加をはかり、後者で尿中カルシウム排泄増加を起こすことにより、結石成分である溶質の負荷をかけて結石形成を発症させた。予備実験では、EG 1%とD₃ 0.5 μg を連日投与したが、早期に腎不全に陥るため、EGを0.5%とし、D₃ 0.5 μg 隔日投与することで、腎障害を抑えた。しかし、この条件であっても、なおイスリンクリアランスでみると対照群の約4分の1までに低下しており、肉眼的にも髓質部や、乳頭部に石灰化がみられた。また、本条件でラットのレ線撮影で経過をみたわれわれの別の実験²⁹⁾では、投与2週目には結石形成は起こっていることが確認されている。尿路結石実験モデルにおいて著明な腎機能障害をきたすことは好ましくないの、投与量をさらに抑えて、さらに長期間観察することも必要であろう。また、エチレングリコール、ビタミンDの投与濃度を適宜変化させることにより結石形成の発生率を比較し、尿中尿酸、カルシウムのいずれの排泄増加が結石形成により強く関与するのかをみることも可能であると考ええる。また、尿中尿酸、カルシウムの排泄増加に加えて、結晶化促進物質あるいは結晶化阻止物質などの結石形成関与についても検討することが可能である。

カルシウム、尿酸以外の尿中排泄物質についてみると、マグネシウムについては、活性型ビタミンD投与群である第3、4群において有意な排泄増加が認め

られ、とくに後者で大であった。これはビタミン D による過カルシウム尿症にともなうマグネシウム吸収障害のほか、腎機能低下、集合管における ADH の働きの抑制による尿濃縮能の低下、多尿にともなっておこるマグネシウム吸収障害によると考えられた³⁰⁾。マグネシウムは結晶化阻止物質として知られ、その欠乏は結石形成を促進^{5,6,8)}し、逆に結石形成モデルにおいてマグネシウム投与は結石形成を抑える^{7,8)}。ビタミン D 投与群でマグネシウムの尿中排泄量増加が対照群の2~3倍となったので、カルシウム、リン、尿酸、およびカルシウムと尿酸の積との比で検討したが、いずれも結石形成群(第4群)と非結石形成群(第2, 3群)との決定的な差異はみいだせなかった。

また、リンについても、第3群で排泄増加を認めたが、これもビタミン D の影響と考えられ、第4群で3週目に低下したのは腎障害を反映したものと思われる。

形態学的所見では、腎実質内において結石発生は、集合管あるいは Henle 係蹄にて多くみられ、凝集した結晶塊が尿管上皮に固着し、結晶周囲にフィラメント様の有機物の付着がみられた。今回は、くわしい走査電顕での解析はおこないえなかったが、今後、より早期の結石形成期で観察する必要がある。

本モデルの特徴は、活性型合成ビタミン D を投与して、 $1\alpha 25(\text{OH})\text{D}_3$ の産生をうながし、それが腸管に働いてカルシウム吸収を亢進させ、その結果過カルシウム尿症を起こすメカニズムと、エチレングリコール投与により内因性の尿酸産生を増加させ、過尿酸尿症を引き起こすメカニズムが相互に作用して、尿酸カルシウム結石を形成したものである。したがって、ヒトの上部尿路結石症に似た病態であるので、本モデルを使って、結石発生に及ぼすさまざまな薬剤の影響、結石形成あるいは再発の予防について検討できると思われる。

結 語

1) ウイスター系ラットを実験動物に選び、エチレングリコール0.5%濃度、飲水投与により、尿中尿酸排泄量は対照群の2~3倍に増加したが、単独では結石形成はみなかった。

2) $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ 0.5 μg 、隔日投与で、尿中カルシウム排泄量は対照群の10~20倍に増加したが、単独では結石形成はみなかった。

3) エチレングリコールと活性型ビタミン D である $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ を併用投与することにより、各単独

では結石形成が起こらない投与量で、77.3%と高率に尿酸カルシウム結石を発症することができた。

4) エチレングリコール、 $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ 併用群では、腎機能は対照群の約4分の1まで低下した。

5) 本モデルは、ヒトにおける尿路結石症で重要な位置を占める尿酸カルシウム結石の成因をさぐるうえにも、各種の再発予防薬剤の効果判定をおこなううえにも、有用かと考えられる。

謝 辞

稿を終えるに当たり、腎組織中のカルシウム、およびマグネシウム濃度を測定していただいた、京都大学医学部公衆衛生学教室、糸川嘉則教授、高島真知子助手に深謝致します。

本論文の要旨は第70回日本泌尿器科学会総会(弘前, 1982) The Second International Urinary Stone Conference (Singapore, 1983) にて発表した。

文 献

- 1) 吉田 修・日本における尿路結石症の疫学. 日泌尿会誌 70: 975~983, 1979
- 2) Tarnet P, Thomas J and Cottenot F: Evolution des dépôts oxaliques et lipidiques au cours de la lithiase rénale expérimentale par l'éthylèneglycol et l'acide oxalique. Soc Biol 155: 1025~1027, 1961
- 3) Lyon ES, Borden TA and Vermeulen CW: Experimental oxalate lithiasis produced with ethylene glycol. Invest Urol 4: 143~151, 1966
- 4) Roberts JA and Finlayson B: Oxalate nephrocalcinosis from ethylene glycol in monkeys. In Colloquium on Renal Lithiasis, pp. 157~167, Finlayson B and Thomas WC Jr. (Editors) University Presses of Florida, Gainesville, 1976
- 5) Rushton HG, Spector M, Rodgers AL, Hughson M, and Magura CE: Developmental aspects of calcium oxalate tubular deposits and calculi induced in rat kidneys. Invest Urol 19: 52~57, 1981
- 6) Rushton HG and Spector M: Effects of magnesium deficiency on intratubular calcium oxalate formation and crystalluria in hyperoxaluric rats. J Urol 127: 598~604, 1982
- 7) Selikowitz SM and Olsson CA: Compar-

- tive effects of anticalculus management in the rat. *Invest Urol* 14: 120~123, 1976
- 8) Gershoff SN and Andrus SB: Dietary magnesium, calcium, and vitamin B₆ and experimental nephropathies in rats: Calcium oxalate calculi, apatite nephrocalcinosis *J Nutr* 73: 308~316, 1961
 - 9) Jordan WR, Finlayson B and Luxenberg M: Kinetics of early time calcium oxalate nephrolithiasis. *Invest Urol* 15: 465~468, 1978
 - 10) Khan SR, Finlayson B, and Hackett RL: Scanning electron microscopy of calcium oxalate crystal formation in experimental nephrolithiasis. *Lab Invest* 41: 504~510, 1979
 - 11) Khan SR, Finlayson B and Hackett RL: Histologic study of the early events in oxalate induced intranephronic calculus. *Invest Urol* 17: 199~202, 1979
 - 12) Dykstra MJ and Hackett RL: Ultrastructural events in early calcium oxalate crystal formation in rats. *Kidney Int* 15: 640~650, 1979
 - 13) 河田栄人, 野田進士, 江藤耕作: 蓆酸塩結石発生過程に関する走差型電子顕微鏡学的研究. *日泌尿会誌* 67: 822~838, 1976
 - 14) Ogawa Y, Takahashi S and Kitagawa R: Oxalate content in common Japanese foods. *Acta Urol Jpn* 30: 305~310, 1984
 - 15) 松尾光雄: 尿石症の成因に関する研究 第1編 結石形成物質および薬剤投与による実験的尿石形成について. *泌尿紀要* 12: 847~859, 1966
 - 16) Gasser G, Kenner Th and Waldhausl W: Experimentelle Untersuchung zur Nephrocalcinose. *Der Urologe* 7: 68~71, 1968
 - 17) Werness PG, Knox FG and Smith LH: Low phosphate diet in rats: A model for calcium oxalate urolithiasis. In *Urolithiasis Research*, pp 731~734, Smith LH, Robertson WG and Finlayson B (Editors). Plenum Press, 1981
 - 18) Itatani H, Yoshioka T, Namiki M, Koide T, Takemoto M and Sonoda T: Experimental model of calcium-containing renal stone formation in a rabbit. *Invest Urol* 17: 234~240, 1979
 - 19) Coulombe JJ and Favreau L: A new simple semimicromethod for colorimetric determination of urea. *Clin Chem* 9: 102~108, 1963
 - 20) Conerty HV and Briggs AR: Determination of serum calcium by means of orthocresolphthalein complexone. *Am J Clin Pathol* 45: 290~296, 1966
 - 21) Chen PS, Toribata TY and Warner H: Microdetermination of phosphorus. *Anal Chem* 28: 1756~1758, 1956
 - 22) Rice EW and Lapara CZ: Rapid ultramicrospectrophotometric determination of magnesium. *Clin Chim Acta* 10: 360~364, 1964
 - 23) 竹内秀雄・岡田裕作・吉田 修: 簡単な尿中蓆酸の測定法. *泌尿紀要* 27: 505~508, 1981
 - 24) 川村寿一・大上和行・細川進一・吉田 修・西野幸典・糸川嘉則: 長期カドミウム投与ラットにおける腎機能ならびにカルシウム, リン代謝障害の検討. *骨代謝* 10: 319~325, 1977
 - 25) Führ J, Kaczmarczyk J and Krüttgen CD: A simple colorimetric method for inulin determination for kidney clearance examinations in the metabolically healthy and in diabetics *Klin Wschr* 33: 729~730, 1955
 - 26) Robertson WG and Peacock M: The cause of idiopathic calcium stone disease: Hypercalciuria or hyperoxaluria? *Nephron* 26: 105~110, 1980
 - 27) Shen FH, Baylink DJ, Nielsen RL, Sherrard DJ, Ivey JL and Haussler MR: Increased serum 1,25-dihydroxy vitamin D in idiopathic hypercalciuria. *J Lab Clin Med* 90: 955~962, 1977
 - 28) Gray RW, Wilz DR, Caldas AE and Lemann J Jr.: The importance of phosphate in regulating plasma 1,25 (OH) vitamin D levels in humans: Studies in healthy subjects, in calcium stone formers and in patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 45: 299~306, 1977
 - 29) 岡田裕作・川村寿一・吉田 修: エチレンジグリコール, 1 α (OH) D₃ 投与ラット結石実験モデルにおける結石発生時期の検討. *泌尿紀要* (投稿予定)
 - 30) 川村寿一・岡田裕作・吉田 修: ビタミンD, エチレンジグリコール投与ラット結石モデルにおける尿中マグネシウム排泄について. *マグネシウム* 3: 27~34, 1984

(1984年12月27日迅速掲載受付)